云 南 植 物 研 究 1992; **14** (1): 67—72
Acta Botanica Yunnanica

烟草花序苞叶的离体花芽分化*

徐瑞娟 李文安
(中国科学院上海植物生理研究所，上海 200032)

摘要 烟草(*Nicotiana tabacum*, Ge Xing No 1)花序上的苞叶在 MS（附加 2.0mg／l 6-BA，0.2mg／l IBA）培养基上培养，能直接分化出营养芽、花芽和愈伤组织，组织切片表明花芽起源于亚表皮细胞。分化花芽的潜力和母体植株的发育状态有关。进入生殖生长阶段的植株其花序苞叶培养后能直接形成花芽。从抽苔期、现蕾期、始花期、盛花期、结果期到成熟期成花百分率由上升到下降，在盛花期达到最大值。分化花芽能力还和外植体在母体植株上的着生位置有关，从花序上端到基部递减，不同基因型的烟草品种其花序小叶具有不同的分化花芽的潜力。

关键词 烟草；花序苞叶；组织培养

IN VITRO FLORAL BUD FORMATION ON BRACTLETS OF NICOTIANA TABACUM

XU Rui-Juan, LI Wen-An
(*Shanghai Institute of Plant Physiology, Academic Sinica*, Shanghai 200032)

Abstract The bractlets in a inflorescence of *Nicotiana tabacum*, which were cultured in MS medium containing 2. 0mg／l 6-BA, 0.2mg／l IBA directly formed vegetative buds, floral buds, or／and callus. The histological aspect of flower bud development in vitro were studied. It was found that the floral buds may originated from sub-epidemic layers. The physiological state of mother plant strongly effected the flowering of bractlets in inflorescence of *N. tabacum* in vitro. Only when the mother plants entered the stage of reproductive growth, the floral bud might form in vitro. From the stage of bolting, bud raising, corolla elongating, first flowering to the stage of blooming of mother plants, from which the bractlets were excised and cultured respectively, the potential of initiation of floral bud on bractlets gradually increased. However on the stages of fruiting, fruit maturing, it may be decreased. We discovered that the greatest potential was in the stage of blooming. Floral bud formation also depends on the position of bractlets on the mother plants. We noted a basipetally decreasing gradient of the capacity of floral bud formation along the stem. The capacity of floral bud formation of four genotypies in

1990年12月收稿，1991年3月定稿。
* 中国科学院重大项目基金资助。

vitro were different and the percentage of bractlets with floral buds was maxium in *N. tabacum* 'Ge Xing No 1'.

Key words *Nicotiana tabacum* Ge Xing No 1; Bractlets in inflorescence; Tissue cultrue

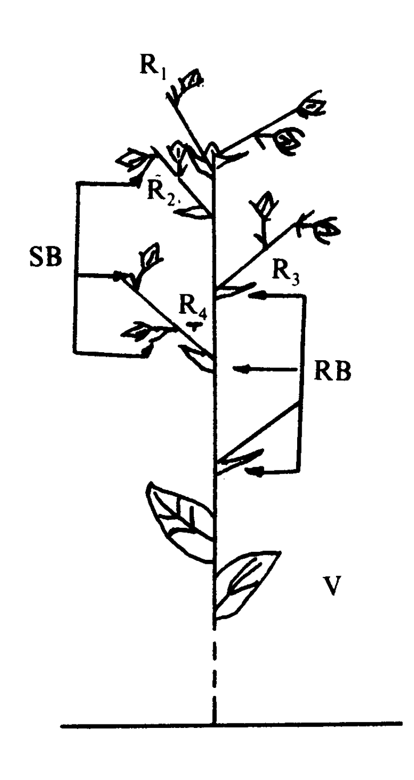


图 1. 开花时期烟草植株图解

V：营养叶；R：花序侧枝；RB：枝苞叶；SB：柄苞叶

Fig.1. Diagrammatic representation of tobacco plant in floral state.

V: vegetative leaf; R: floral branch; RB: bractlet in floral branch; SB: bractlet in floral stalk.

组织培养技术为研究开花过程中化学因子、物理因子的作用提供了有利的实验系统，但早期的研究局限于已进入生殖生长的植株的茎段，以叶片为研究对象的不多。Pierik[1] 报道经过16个星期的冷处理后的一年生缎花的叶柄培养后能抽苔。Bajaj[2] 和 Scorzq[3] 先后报道花芽能从蓝猪耳和栓皮西番莲叶片经培养产生的愈伤组织或再生苗中分化出来，花芽的数目和外植体在母株上的位置有关，上部叶产生的花芽数多于下部的花芽数。Simmond[4, 5] 和 Handro[6] 分别报道了培养基成分、体外光诱导以及生长调节物对好望角苣苔叶片体外直接开花的影响。

我们曾发现烟草花序苞叶和烟草茎薄层一样也能直接形成花芽[7, 8]。本文探讨了花芽的细胞学起源，苞叶直接成花潜力与植株基因型、发育状态以及在母株上的着生位置的关系。

材料和方法

取不同生长发育时期的烟草“革新一号”的营养叶和花序苞叶（其中长在花序侧枝基部的称为枝苞叶，长在花柄基部的称为柄苞叶），以及处于盛花期的黄化烟草(*N. rustica*),*N.tabacum* Samsun 和 *N.tabacum* 'SR1'的柄苞叶用自来水洗干净，表面灭菌后，放在铺有10ml培养基的6cm培养皿内，每皿放15片，培养基成份为 MS+2.0mg／l 6−BA+0.2。mg／l IBA，培养条件：26℃±1℃，5000lx，每日光照12h，试验重复4—5次。

收集培养了6，12，18d的“革新一号”柄苞叶固定于戊二醛以及锇酸中，经脱水，包埋后进行半薄切片，切片厚度2—3μm，经苏木精染色。

结　　果

花序苞片离体分化花芽能力与母体植株发育状态的关系

处于营养生长期的烟草叶片在 MS+2.0mg／l 6−BA+ 0.2mg／ l IBA 培养基上培

养，外植体周缘长出较硬的愈伤组织，内部分化形成营养芽。只有进入生殖生长阶段后的烟草花序上的苞叶才能直接分化成营养芽和花芽并发生少量的愈伤组织。整个生殖过程可以人为地分为抽苔期、现蕾期、花冠伸长期（花冠从蕾中伸出，但未展开）、始花期（花序第一朵花开放），盛花期，结果期（开花后 10—15 天）和果实成熟期（开花后 20—25 天），几个时期取样培养发现开花过程中不同时期的花序苞叶形态发生的潜力不同（表 1）。从抽苔期到盛花期离体花序苞叶分化花芽的能力逐渐提高，在盛花期达到最高峰。当植株开始结果时，离体花序苞叶形成花芽能力开始减弱，果实成熟变黄时，花序苞叶变厚，成活率低，愈伤组织、营养芽发生较少，存活的外植体中发生花芽的数目只有 14.3%，相当于抽苔时的水平。

表 1. 母株的发育状态对花序苞叶离体成花能力的影响

Table 1. The effect of developmental stages of mother plant on in vitro floral bud formation in inflorescence bractlets of *Nicotiana tabacum* (medium containing 2. 0mg / l 6-BA, 0.2 mg / l IBA)

发育时期 Physiological state	存活的外植体数 Total No. of neoformation	成花率(%) Cultures with floral bud (%)	花芽数 / 每个外植体 Floral buds culture
抽苔期 bolting	23	17.4	4.25
现蕾期 bud raising	30	43.3	5.92
花冠伸长期 corolla elongating	27	51.9	3.79
始花期 first flowering	34	47.1	5.38
盛花期 blooming	74	68.9	5.45
结果期 fruiting	32	43.8	7.53
果实成熟期 fruiting maturing	15	14.3	5.20

离体花序苞叶体外成花能力与其在母株上的着生位置关系

处于盛花期的烟草枝苞叶花序上端到下部长度逐渐增长，主、侧脉逐渐清晰（图 1)。顶端 R_1、R_2 枝苞叶长 10—15mm，R_3、R_4 枝苞叶长 24—27mm，近基部枝苞叶长为 40mm 以上，主、侧脉均很明显。在 MS+2.0mg / l 6-BA+0.2mg / l IBA 上培养 20 天后，R_1、R_2 枝苞叶形成花芽的外植体数为 56%，每个外植体的花芽数为 6—8，而 R_3、R_4 枝苞叶形成花芽的外植体只有 20%，每个外植体的花芽数为 2—3 个。近花序基部的枝苞叶以及花序以下的叶片只能形成营养芽和愈伤组织而无花芽发生。枝苞叶离体培养条件下成花的能力沿着茎干自上而下减弱。不同花序侧枝上的柄苞叶离体成花能力却没有区别，形成花芽频率均在 70%。

基因型对花芽分化的影响

处于盛花期的四种基因型的烟草其花序苞叶在 MS（附加 2.0mg / l 6-BA、

0.2mg／1IBA）上培养均具有器管发生的能力，但以"革新一号"能力最强，"黄化烟草"最弱（只能形成愈伤组织）。外植体直接形成花芽的能力也以"革新一号"最强（表2）。

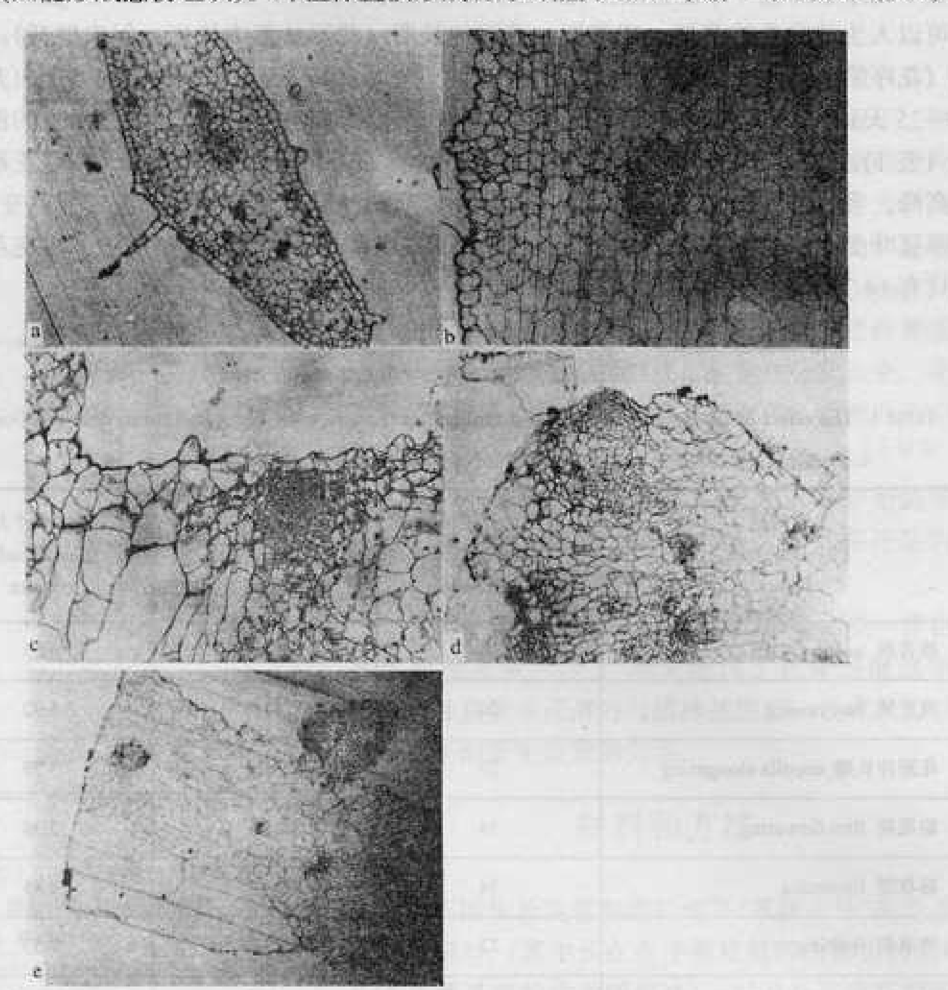


图2. a. 烟草"革新一号"花序苞叶横切面；b. 培养一个星期后，花序苞叶横切面；c,d. 起源于亚表皮细胞的分生中心；e. 培养2—3个星期后，花序苞叶横切面，示分生中心进一步发育成花芽。

Fig.2. a. Transection of a inflorescence bractlet of *N. tabacum* 'Ge Xing. Nol'. b. Transection of a bractlet after a week in culture. c,d. Deviding center originating from sub-epidermal layers of a bractlet after a week in culture. e. Transection of a bractlet after 2—3 weeks in culture, showing floral buds developing from deviding center.

花芽分化的形态学、组织学观察

花序苞叶由10–12层细胞组成，无明显的栅栏组织和海绵组织的分化，细胞间隙较大（图2：a），培养一星期后，苞叶明显地增厚，细胞扩大（图2：6），表皮下的第二层细胞（亚表皮细胞）开始分裂，形成小的分生中心（图2：c、d），这些分生中心继续发育成弯形的花芽（图2：l）。花芽、营养芽一般长在花序苞叶的中部、叶缘以及近切割面处，在切口处常有愈伤组织发生（图3：a、b），花芽发育较为正常，培养三个星期后，可见明显的雌雄蕊分化（5个雄蕊，一个雌蕊），但是花冠萎缩（图3：c）。当植株进入结果期或果实成熟时，花序苞叶体外成花较为困难，且有9—10%花芽发育

不正常，表明为萼片的膨大，雄蕊数增多（图 3：d）。

表 2. 不同基因型的烟草盛花期离体花序苞叶离体成花能力比较

Table 2. Comparative data on floral bud formation of the inflorescence bractlets of four tobacco genotypes.

基因型 genotypes	外植体存活数 Total No. of neoformation	成花百分率(%) Cultures with floral buds(%)	花芽数／每个外植体 Floral buds culture
N. tabacum 'Ge Xing Nol'	74	68.9	5.45
N. tabacum 'Samsun'	18	55.6	5.8
N. tabacum 'SR'	31	60.7	4.9
N. rustica	29	0	0

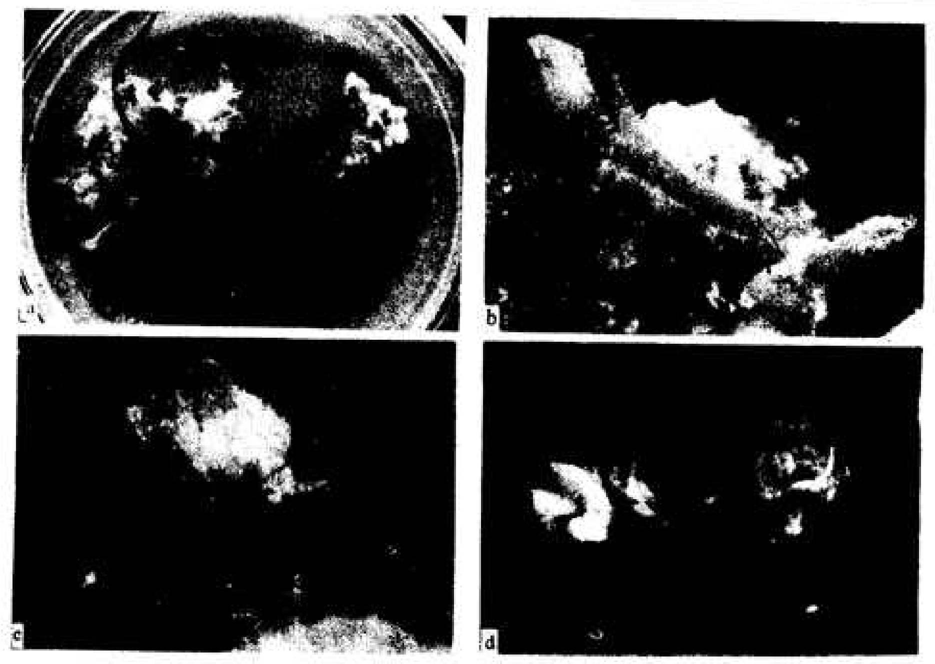


图 3. a. 培养 2 个星期后的花序苞叶；b. 花序苞叶上直接形成花芽；c. 体外培养发育正常的花芽；d. 体外培养发育不正常的花芽。

Fig. 3. a. Bractlets in inflorescence cultured for 2 weeks. b. Floral buds formed directly from a bractlet. c. A normally developed floral bud. d. An unnormal developed floral bud.

讨　　论

烟草花序苞叶体外成花能力随开花过程由弱→强→弱，并且沿着花轴向地性减弱，烟草茎薄层培养[7,9,10]和蓝猪耳叶片培养[2]都得到相同的结果；即在相当的培养条件

下，外植体形态表达依赖于母株的生理状态，主要是外植体在母株上的节位。作者认为这可能和外植体的细胞内状态有关。Thorpe[11] 发现烟草主茎薄层的过氧化物酶活性向地性增加，而体外成花能力向地性减弱。Altamura[3] 发现的烟草顶端到基部主茎薄层细胞 DNA 含量逐渐损失，而花枝薄层细胞 DNA 重复序列扩增，认为形态表达是在核水平上的调节。Wardell[12] 指出 DNA 重复序列的扩增对体外开花是必需的，而没有 DNA 序列损失的上部茎数，主要形成营养芽，茎中部、基部细胞 DNA 序列的损失逐渐影响了形态表达能力。烟草盛花期后，花序苞叶体外成花能力的降低是否反映了 DNA 重复序列的丧失？不同节位的花序苞叶是否也存在 DNA 序列损失梯度、酶活性梯度或内源激素梯度有待于我们进一步研究。总之烟草花序苞叶是研究体外开花的内外影响因子的简便而有效的材料。

参考文献

〔1〕Pierik R L M. The induction and initiation of flower bud in vitro in tissures of *Lunaria annua* L. *Naturwissenschaften* 1965; **53**:45

〔2〕Bajaj Y B S. Effect of some growth regulation on buds formation by excised leaves of *Torenia fournier*. *Z. Pflanzenphysiol* 1970; **66**:284—287

〔3〕Scorza R, Jules J. In vitro flowering in Passiflora. *Hortscience* 1977; **12**:547—548

〔4〕Simmond J. In vitro flowering on leaf explants of *Streptocarpus nobilis*. The influence of culture medium components on vegetative and reproductive development. *Can J Bot* 1982; **60**:1461—1468

〔5〕Simmond J. In vitro photoinduction of leaf tissues of *Streptocapus nobilis*. *Biologia Plantarum* (praha) 1985; **27**:318—324

〔6〕Handro W. Effect of some growth regulators on in vitro flowering of *Streptocarpus nobilis*. *Plant Cell Rep* 1983; **2**: 133—136

〔7〕李文安，徐瑞娟，陈永宁.烟草的不同器官薄层培养形成花芽的研究. 实验生物学报 1989; **22**(4):385—391

〔8〕李文安，徐瑞娟. 烟草离体花序小叶花芽分化（简报）. 实验生物学报 1990; **23**(2):243—245

〔9〕Tran Thanh Van M. Direct flower neoformation from superficial tissue of small explants of *Nicotiana tabacum* L. *Planta* 1973; **115**: 87—92

〔10〕Altumula M M, Bassi P. Nuclear DNA changes during plant development and the mophogenetic response in vitro of *Nicotiana tabacum* tissues. *Plant Science* 1987; **53**:73—79

〔11〕Thorpe T A, *Tran Thanh Van* M. Isoperoxidases in epidermal layers of tobacco and changes during organ formation in vitro. *Physiol Plant* 1978; **44**:388—394

〔12〕Wardell W L, Skong F. Flower formation in excised tobacco stem segments. III. Deoxyribonucleic acid content in stem tissue of vegetative and flowering tobacco plants. *Plant Physiol* 1973; **52**:215—220